



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**ESTUDO SOBRE O EXTRATO ORGÂNICO EM AMOSTRAS  
DE SEDIMENTOS NA RESERVA BIOLÓGICA MARINHA DO  
ARVOREDO E ENTORNO**

**MARINA PEREIRA COELHO**

Florianópolis  
Dezembro/2016

Marina Pereira Coelho

**ESTUDO SOBRE O EXTRATO ORGÂNICO EM AMOSTRAS  
DE SEDIMENTOS NA RESERVA BIOLÓGICA MARINHA DO  
ARVOREDO E ENTORNO**

Relatório apresentado ao Departamento de Química  
da Universidade Federal de Santa Catarina,  
como requisito parcial da disciplina de  
Estágio Supervisionado II (QMC 5512)

**Orientador: Prof. Dr. Luiz Augusto dos Santos Madureira**

Florianópolis  
Dezembro/2016

**Marina Pereira Coelho**

**ESTUDO SOBRE O EXTRATO ORGÂNICO EM AMOSTRAS  
DE SEDIMENTOS NA RESERVA BIOLÓGICA MARINHA DO  
ARVOREDO E ENTORNO**

---

Prof. Dr. Luciano Vitali  
Coordenador de Estágio do Curso de Química-Bacharelado

Banca Examinadora:

---

Prof. Dr. Luiz Augusto dos Santos Madureira  
Orientador

---

Prof. Dr. Cristiane Luisa Jost.

---

Prof. Dr. Daiane Paula Cunha de Quadros

Florianópolis  
Dezembro/2016

Aos meus pais, Verônica e Vanderlei e  
minhas irmãs, Daiane e Vanderlea,  
meus exemplos de vida, os quais me  
educaram com muito amor e carinho,  
sempre me incentivando a estudar...

...dedico.

## Agradecimentos

A Deus que permitiu que tudo isso acontecesse em minha vida;

Ao Prof. Dr. Luiz Augusto dos Santos Madureira, por todos os ensinamentos transmitidos ao longo de dois anos de pesquisa. Agradeço pela orientação, amizade, paciência e apoio em todos os momentos;

A minha mãe Verônica e meu pai Vanderlei, por serem meu alicerce e pelo apoio incondicional, sempre incentivando meus sonhos e me guiando em todas as escolhas;

As minhas irmãs, Daiane e Vanderlea por tudo que fazem e representam pra mim, aos simples gestos que fazem tudo valer a pena;

A Carol, que durante todo esse período transformou todas as tarefas mais simples se tornando uma irmã que eu escolhi pra vida. Agradeço à amizade, as ideias compartilhadas, os incentivos e conselhos transmitidos nas horas difíceis, de desânimo e cansaço. Agradeço aos momentos felizes que fizeram toda diferença ao seu lado;

A Amanda, Beatriz e Isabel pela amizade construída ao longo desse período. Sou imensamente grata por todo apoio e momentos felizes que jamais esquecerei. Amigas que vão continuar presentes em minha vida com certeza;

Aos colegas de turma, agradeço por todas as horas de estudo, pelas alegrias, tristezas e dores compartilhadas. A pausa para o café entre uma aula e outra sem vocês não seria igual. Breno, Roger, Caetano, Marcos, Rhannanda, Carol, Fernanda, Igor, Naielly, Natan e Lucas, obrigada pela amizade;

As colegas de laboratório Ana, Larissa, Leila e Karine pelo convívio e produtivas discussões. Em especial a Morgana pelas horas de ajuda, paciência e ensinamentos, sou muito grata;

A todos os professores que fizeram parte da minha formação, sou grata;

A UFSC, CNPq, CAPES e FAPESU pelo amparo financeiro.

**Os dados [Parte dos dados] e/ou imagens apresentados neste trabalho foram obtidos no âmbito do Projeto MAArE. A realização do projeto MAArE é uma condicionante indicada pelo ICMBio no âmbito do processo de licenciamento ambiental do IBAMA.**

**The data and/or images included in this work were obtained within the framework of the Monitoramento Ambiental do Arvoredo e Entorno (MAArE) Project. The carrying out of the project MAArE is a condition set by the ICMBio in the context of IBAMA's environmental licensing process.**

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>14</b>
<b>2.1 Reserva Biológica Marinha do Arvoredo .....</b>	<b>14</b>
<b>2.2 Geoquímica Orgânica.....</b>	<b>15</b>
<b>2.2.1 Biomarcadores Geoquímicos.....</b>	<b>15</b>
<b>2.3 Hidrocarbonetos .....</b>	<b>15</b>
<b>2.3.1 Hidrocarbonetos de Petróleo .....</b>	<b>16</b>
<b>2.3.2 N-alcanos .....</b>	<b>17</b>
<b>2.3.3 Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos .....</b>	<b>19</b>
<b>2.4 Esteróis.....</b>	<b>21</b>
<b>2.5 Cromatografia a Gás.....</b>	<b>23</b>
<b>2.5.1 Cromatografia a Gás com Detector por Ionização em Chama (GC/FID)</b> <b>.....</b>	<b>23</b>
<b>2.5.2 Cromatografia a Gás Acoplada à Espectrometria de Massas (GC-MS)</b> <b>.....</b>	<b>24</b>
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>25</b>
<b>3.1 Objetivo Geral .....</b>	<b>25</b>
<b>3.2 Objetivos específicos.....</b>	<b>25</b>
<b>4 METODOLOGIA .....</b>	<b>26</b>
<b>4.1 Amostragem.....</b>	<b>26</b>
<b>4.2 Materiais e Reagentes .....</b>	<b>27</b>
<b>4.3 Equipamentos .....</b>	<b>28</b>
<b>4.4 Limpeza da Vidraria.....</b>	<b>29</b>
<b>4.5 Ativação do Cobre .....</b>	<b>29</b>
<b>4.6 Extração.....</b>	<b>30</b>

<b>4.7 Fracionamento .....</b>	<b>30</b>
<b>4.8 Silanização .....</b>	<b>31</b>
<b>4.9 Análise, Identificação e Quantificação.....</b>	<b>31</b>
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>33</b>
<b>5.1 Hidrocarbonetos Alifáticos .....</b>	<b>33</b>
<b>5.1.1 Mistura Complexa Não Resolvida (UCM) .....</b>	<b>36</b>
<b>5.1.3 Porcentagem de Carbono.....</b>	<b>39</b>
<b>5.2 Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos.....</b>	<b>40</b>
<b>5.3 Esteróis.....</b>	<b>40</b>
<b>6 CONCLUSÃO .....</b>	<b>41</b>
<b>7 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>42</b>



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação geográfica da REBIO Arvoredo e entorno, Estado de Santa Catarina, Brasil.....	14
Figura 2: Cromatograma de distribuição de hidrocarbonetos lineares. ....	17
Figura 3: Cromatograma com elevação da linha base. ....	18
Figura 4: Estruturas químicas do Naftaleno, Antraceno e Fenantreno.....	19
Figura 5: Estruturas químicas de 16 HPAs prioritários.....	20
Figura 6: Estruturas químicas de alguns esteróis.....	22
Figura 7: Representação esquemática das estações de coleta de amostra na REBIO Arvoredo e entorno.....	26
Figura 8: Coleta de amostra de sedimentos com auxílio de amostrador do tipo Van Veen.....	27
Figura 9: Exemplo de derivação de esteróis. ....	31
Figura 10: Representação em mapa das concentrações de HTP para a campanha de 2015. ....	34
Figura 11: Representação em mapa das concentrações de HTP para campanha de 2016. ....	35
Figura 12: Perfil cromatográfico obtido através de análise por GC-FID para amostra da estação 8 da campanha de 2016. ....	36
Figura 13: Perfil cromatográfico obtido através de análise por GC-FID para amostra da estação 12 da campanha de 2016. ....	36
Figura 14: Perfil cromatográfico obtido através de análise por GC-FID para amostra da estação 2 da campanha de 2015, onde C <sub>16d</sub> é o pico referente ao padrão interno, os subsequentes são referentes aos n-alcanos. ....	38

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Reagentes, materiais e solventes utilizados nas determinações, extrações, e preservação das amostras. ....	28
Tabela 2: Equipamentos.....	28
Tabela 3: Condições cromatográficas empregadas no GC/FID. ....	32
Tabela 4: Condições cromatográficas empregadas no GC-MS. ....	32
Tabela 5: Dados das concentrações de HTP das campanhas realizadas. ....	34
Tabela 6: Valores de IPC para algumas amostras de 2015. ....	38

## LISTA DE ABREVIATURAS

**BSTFA-** N,O-bis(trimetil-silil-trifluor-acetamida)

**EPA-** do inglês *Environmental Protection Agency*

**GC-** do inglês *Gas Chromatography*

**GC-FID-** do inglês *Gas Chromatography / Flame Ionization Detection*

**GC/MS-** do inglês *Gas Chromatography – Mass Spectrometry*

**HA-** Hidrocarbonetos Alifáticos

**HPA-** Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos

**IPC-** Índice Preferencial de Carbono

**LOD-** Limite de Detecção

**LOQ-** Limite de Quantificação

**PC-** Picos Resolvidos

**Projeto MAArE-** Projeto de Monitoramento Ambiental na Reserva Biológica Marinha do Arvoredo e entono

**REBIO Arvoredo-** Reserva Biológica do Arvoredo

**UCM-** do inglês *Unresolved Complex Mixture*

**USEPA-** do inglês *United States Environmental Protection Agency*

**TPH-** do inglês *Total Petroleum Hydrocarbons*

## RESUMO

Amostras de sedimentos foram coletadas na Reserva Biológica Marinha do Arvoredo e entorno em campanhas nos anos de 2015 e 2016. O extrato orgânico foi fracionado em Hidrocarbonetos alifáticos (HA), Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA) e Esteróis e analisado pelas técnicas de cromatografia a gás com detector por ionização por chama (GC/FID) e cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) para a avaliação e quantificação dos compostos orgânicos. As concentrações da fração alifática variaram entre 3,93 e 68,46 mg kg<sup>-1</sup>. Foram aplicados testes de avaliação de variância, índices como o Índice Preferencial de Carbono (IPC), assim como também a razão entre a fração não resolvida e resolvida. A partir desses parâmetros observou-se um aporte misto de matéria orgânica de origem terrígena e aquática. Os valores não apontaram diferenças significativas entre si, mas se observou uma tendência a valores mais altos de concentração em áreas fora da região da reserva, próximo a Ilha de Santa Catarina com valor de 68,46 mg kg<sup>-1</sup> no ano de 2015. Os valores de concentração para os HPAs encontrados ficaram abaixo do limite de quantificação do método (1,00 µg kg<sup>-1</sup>). Nenhum esterol foi identificado nas amostras acima do limite de detecção do método (3,7 µg kg<sup>-1</sup>). Conclui-se que não há contaminação por esgoto doméstico não tratado.

*Palavras chaves: Reserva Biológica Marinha do Arvoredo, Hidrocarbonetos, Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos, Hidrocarbonetos Totais de Petróleo, Esteróis.*

## 1 INTRODUÇÃO

A Reserva Biológica Marinha do Arvoredo (REBIO Arvoredo) localiza-se no litoral do Estado de Santa Catarina, entre os municípios de Florianópolis e Bombinhas. A REBIO Arvoredo possui alta diversidade de ambientes marinhos e terrestres com uma infinidade de espécies, sendo muitas delas raras e ameaçadas de extinção. A REBIO Arvoredo abriga diversas espécies de peixes que podem contribuir com a atividade pesqueira na região.

O projeto Monitoramento Ambiental na Reserva Biológica Marinha do Arvoredo e Entorno (Projeto MAArE) é baseado em indicadores biológicos, associados a parâmetros oceanográficos, que permitem monitorar a qualidade ambiental do ecossistema marinho através de um monitoramento contínuo e sistematizado, buscando subsidiar o processo de gestão na Reserva, contando com várias áreas de estudo. O projeto possui apoio do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade em parceria com a Petrobras.<sup>1</sup>

O Laboratório de Química Ambiental e Geoquímica Orgânica da Universidade Federal de Santa Catarina participa do projeto com fins de avaliar a composição química do extrato orgânico e verificar a presença de compostos contaminantes em amostras de sedimentos da REBIO Arvoredo e entorno.

Os compostos orgânicos no ambiente marinho podem estar presentes na água, organismos e no sedimento, podendo ser originados de fontes antropogênicas ou naturais. Alguns desses compostos pertencem ao grupo dos hidrocarbonetos alifáticos (HA), policíclicos aromáticos (HPA) e esteróis. Em função da concentração, tipo de composto e predominância, alguns são muito utilizados como biomarcadores geoquímicos.<sup>2</sup> A presença desses compostos pode gerar grandes impactos ambientais tais como: contaminação microbiana, alteração da biodiversidade, acréscimo de matéria orgânica e o enriquecimento por nutrientes, podendo vir a causar eutrofização e a deposição de resíduos sólidos nos sedimentos.<sup>3</sup>

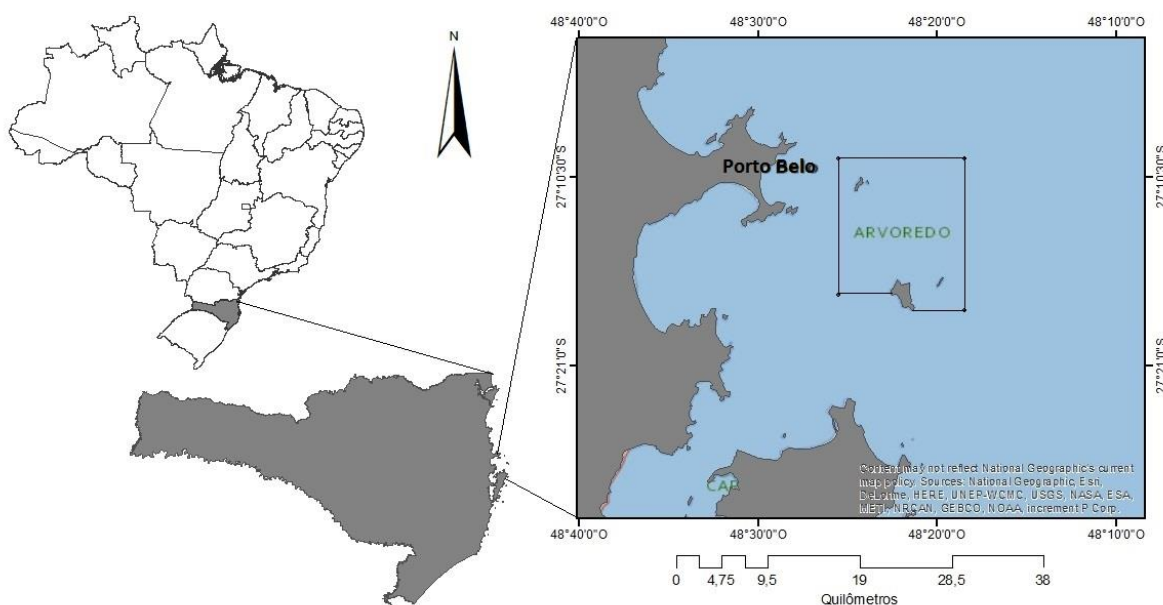
## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Reserva Biológica Marinha do Arvoredo

Criada em 12 de março de 1990, através do Decreto Federal nº 99.142, a Reserva Biológica Marinha do Arvoredo é uma unidade de conservação federal, de proteção integral, que tem como objetivo proteger um pequeno espaço da costa brasileira que apresenta grande importância biológica.

Localizada no litoral do Estado de Santa Catarina, entre os municípios de Florianópolis e Bombinhas, a Reserva possui 17.600 hectares de superfície e abriga em seu interior as Ilhas do Arvoredo, Galé, Deserta, Calhau de São Pedro e uma grande área marinha que circunda esse arquipélago.<sup>1</sup>

**Figura 1:** Representação geográfica da REBIO Arvoredo e entorno, Estado de Santa Catarina, Brasil.



Fonte: ArcMap.

A alta diversidade de ambientes marinhos e terrestres existentes na reserva abrigam uma infinidade de espécies, sendo muitas delas raras e ameaçadas de extinção. As ilhas apresentam remanescentes de Mata Atlântica, locais de reprodução para aves marinhas e sítios arqueológicos com sambaquis e inscrições rupestres. Além disso, os ambientes marinhos da Reserva fornecem abrigo para reprodução e crescimento de diversas espécies de peixes, o que contribui para manutenção dos estoques pesqueiros no entorno.<sup>1</sup>

## **2.2 Geoquímica Orgânica**

A geoquímica orgânica é considerada uma ciência que tem como principal foco estudar os compostos orgânicos que estão presentes na geosfera. Esses compostos podem se manter preservados durante um longo período de tempo em rochas sedimentares, podendo retornar ao ambiente de forma natural ou através de ação humana.<sup>4</sup>

### **2.2.1 Biomarcadores Geoquímicos**

Alguns compostos orgânicos que apresentam em sua estrutura a possibilidade de manter durante o transporte características de origem e modificações estruturais são denominados biomarcadores geoquímicos ou moleculares.

O uso desses compostos está relacionado com a importância que eles apresentam através das várias classes de hidrocarbonetos com diferentes tempos de residência, estabilidade, mecanismos de transporte e destino, que variam com suas propriedades físico-químicas.<sup>2</sup>

Os biomarcadores geoquímicos são amplamente utilizados em estudos de compostos orgânicos presentes no meio aquático. Podem fornecer informações sobre as origens dos hidrocarbonetos e esteróis presentes na matéria orgânica dos sedimentos.<sup>3</sup>

## **2.3 Hidrocarbonetos**

Alguns estudos podem relacionar os hidrocarbonetos encontrados em água, organismos e sedimentos com diferentes fontes naturais e antropogênicas. Alguns hidrocarbonetos presentes na água podem ser adsorvidos por partículas em

suspensão e posteriormente depositados no sedimento.<sup>2</sup> Sendo assim, os sedimentos apresentam muitas informações do ecossistema, pois comportam estruturas de animais e vegetais e compostos que não sofreram decomposição.<sup>5, 6</sup>

A maioria dos hidrocarbonetos não sofrem facilmente degradação microbiana, conseguindo assim atuar como bons indicadores de origem da matéria orgânica presente nos sedimentos.<sup>7</sup>

Os hidrocarbonetos são comumente encontrados no meio ambiente decorrente de múltiplas fontes. A maior parte desses compostos derivam de fontes naturais como plantas, animais, bactérias, macro e microalgas. Alguns hidrocarbonetos são oriundos de bactérias e degradação química de lipídios que ocorrem naturalmente. Os hidrocarbonetos de fontes antropogênicas podem chegar ao ambiente marinho através de resíduos de embarcações, descargas fluviais, esgoto doméstico, pirólise de combustíveis fósseis e em alguns casos mais críticos, como derramamento de petróleo. Esse último caso merece atenção e contribui com uma parte significativa de hidrocarbonetos no ambiente, por estarem presente em maior fração no petróleo, podem apresentar a maior fonte desses compostos no ambiente marinho.<sup>2</sup>

### **2.3.1 Hidrocarbonetos de Petróleo**

O petróleo é composto por várias classes de hidrocarbonetos, como os alifáticos e aromáticos. O que difere os dois tipos de compostos são suas estruturas, que variam com a maneira como os átomos de carbono estão ligados aos átomos adjacentes de carbonos.

Os hidrocarbonetos alifáticos representam a maior fração da composição do petróleo e são compostos persistentes no meio ambiente. Devido a essas propriedades, é possível utilizar esses compostos como indicadores de contaminação e classificar a origem da matéria orgânica no ambiente.<sup>8</sup>

Os Hidrocarbonetos Totais de Petróleo, também chamados de TPH do inglês *Total Petroleum Hydrocarbons* compreendem quatro classes principais de hidrocarbonetos, são eles: aromáticos, alcanos, alcenos e cicloalcanos.<sup>9</sup>

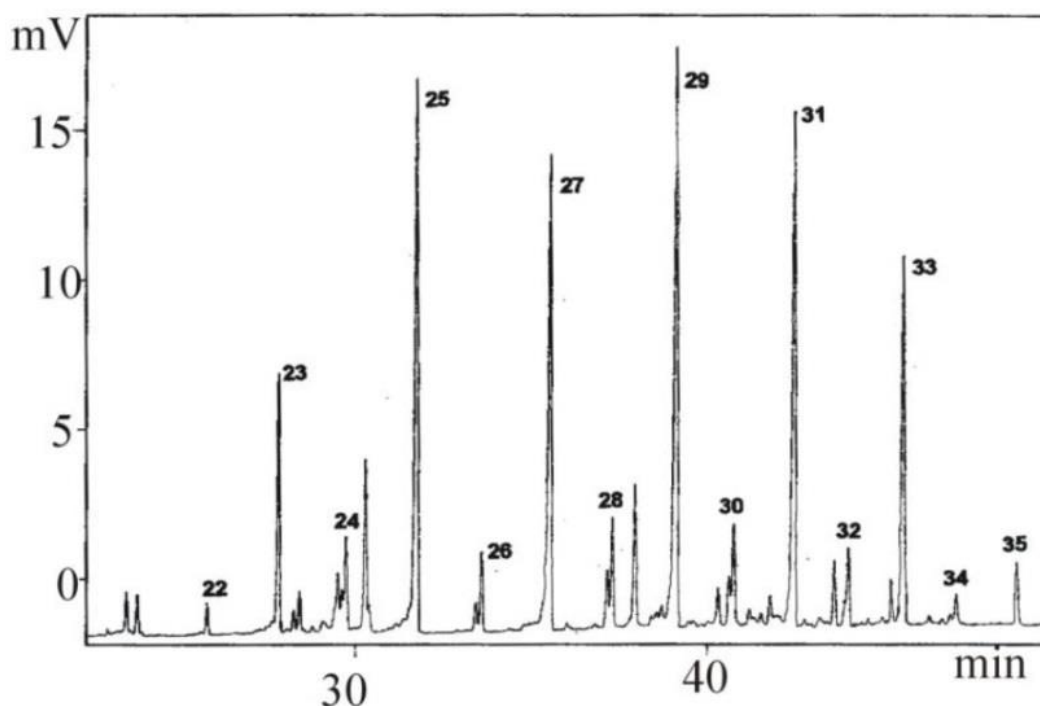


### 2.3.2 N-alcanos

Os n-alcanos ou alcanos normais são hidrocarbonetos saturados de cadeia aberta, onde sua estrutura é um conjunto de átomos de carbonos, unidos por ligações simples e que não apresentam ramificações.<sup>7</sup>

Os n-alcanos de fontes naturais apresentam estruturas predominantes de números ímpares de carbono. Os n-alcanos que possuem cadeias longas entre  $C_{27}$  a  $C_{35}$  apresentando predominância de ímpares sobre os pares são característicos de plantas. Os que apresentam estrutura  $C_{15}$ ,  $C_{17}$  e  $C_{19}$  estão relacionados com algas aquáticas. Estruturas de cadeias médias, entre  $C_{20}$  e  $C_{25}$ , são de origem de macrófitas aquáticas submersas. Bactérias costumam apresentar n-alcanos de cadeias pares, como  $C_{18}$  e  $C_{20}$ . Os n-alcanos derivados do petróleo costumam não apresentar predominância de ímpares sobre pares.<sup>10, 11</sup> A Figura 2 mostra um perfil onde se percebe predominância de hidrocarbonetos lineares ímpares sobre os pares, relacionado a sedimentos não contaminados.

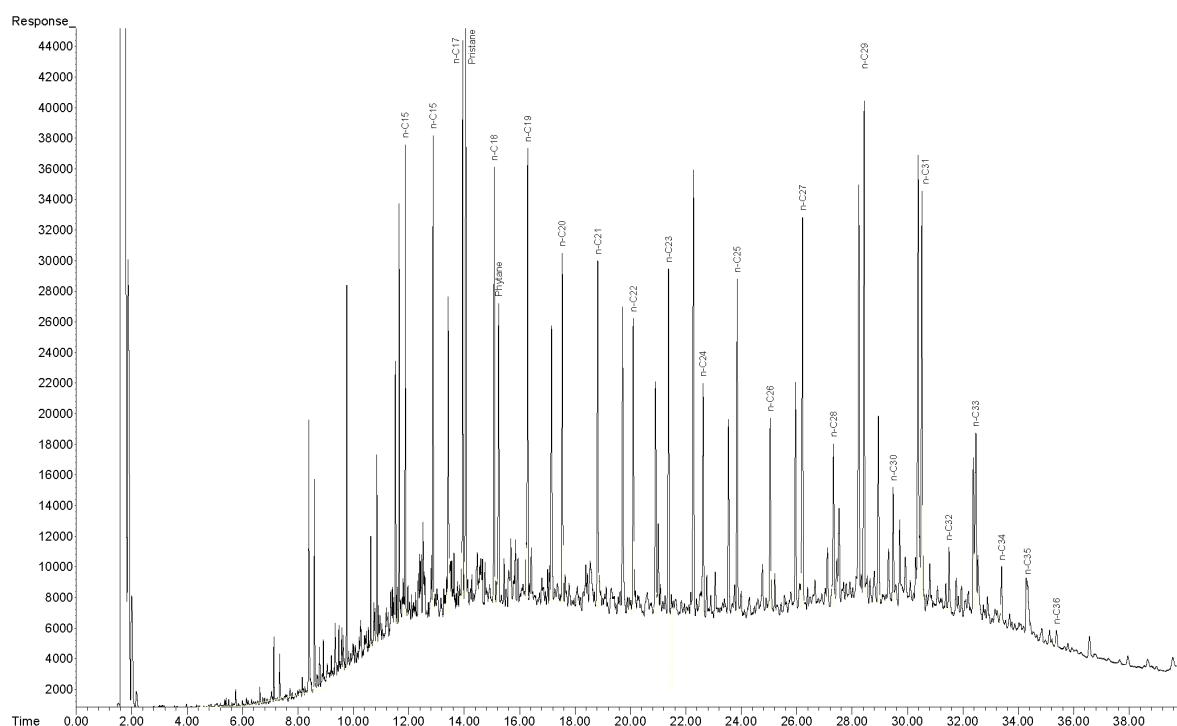
**Figura 2:** Cromatograma de distribuição de hidrocarbonetos lineares.



Fonte: FRENA, 2014.

Amostras de sedimentos que possivelmente estejam contaminadas por petróleo podem ser avaliadas através de cromatografia a gás com detector por ionização em chama, avaliando o comportamento da linha base do cromatograma. Uma amostra que apresenta uma elevação na linha base indica uma possível contaminação por petróleo.<sup>4</sup>

**Figura 3:** Cromatograma com elevação da linha base.



Fonte: Analytical-services.

Essa elevação na linha base é constituída de isômeros e homólogos de hidrocarbonetos ramificados e cíclicos, conhecida como uma mistura complexa não resolvida do inglês *unresolved complex mixture* (UCM).<sup>8</sup> Amostras que são consideradas não contaminadas por petróleo, apresentam um valor menor que 10 mg kg<sup>-1</sup> para uma UCM, e ela está comumente relacionada à degradação de hidrocarbonetos presentes em algas.<sup>12</sup>

Outro parâmetro que costuma avaliar a origem da matéria orgânica é o Índice Preferencial de Carbono (IPC), calculado a partir da razão de hidrocarbonetos lineares ímpares sobre os pares.<sup>13</sup> Os valores da razão ímpar sobre par entre 4 e 7 caracterizam um aporte biogênico, enquanto que valores próximos a 1 podem

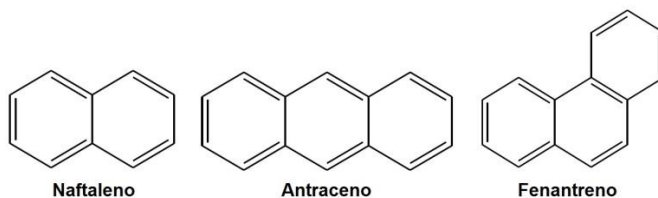
indicar influência de contaminação por hidrocarbonetos de petróleo ou estarem relacionado a degradação microbiana dos mesmos.<sup>14, 15</sup>

### 2.3.3 Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) são amplamente conhecidos como poluentes ambientais, com abrangência no ar, água e solo.<sup>16</sup>

Os HPAs são compostos orgânicos que possuem no mínimo dois anéis aromáticos condensados em sua estrutura; o exemplo mais simples é o naftaleno. Hidrocarbonetos que apresentam um terceiro anel benzênico podem resultar de dois modos; um arranjo linear de todos os anéis da estrutura e um arranjo ramificado. As duas moléculas decorrentes são antraceno e fenantreno, que estão diretamente ligadas com a combustão incompleta de alguns materiais como carvão e madeira. Em geral, esses compostos são chamados de hidrocarbonetos polinucleares ou policíclicos aromáticos.<sup>11, 16, 17</sup>

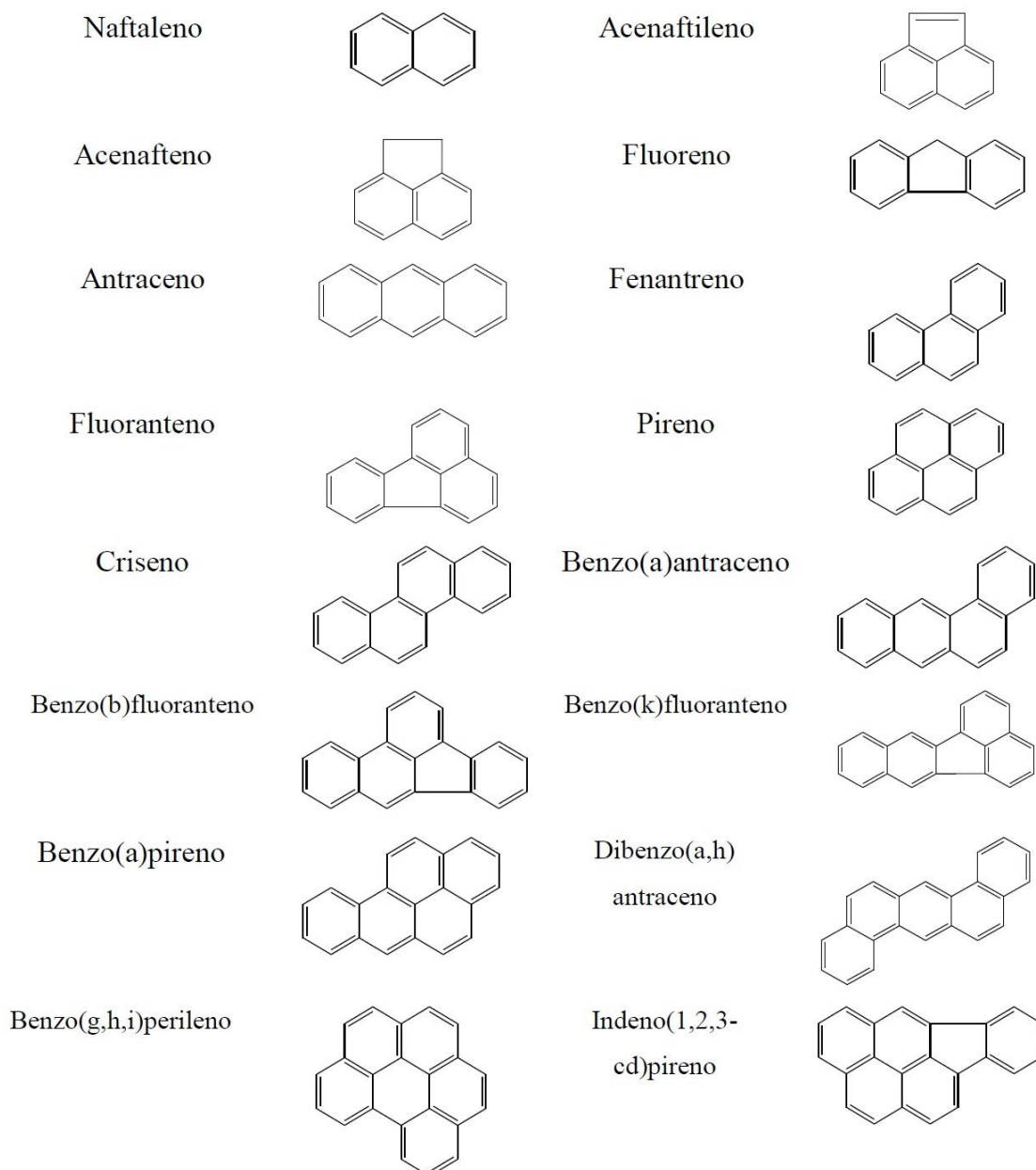
**Figura 4:** Estruturas químicas do Naftaleno, Antraceno e Fenantreno.



Fonte: BAIRD; CANN., 2011.

Os HPAs podem ser formados através de processos de combustão incompleta ou pirólise da matéria orgânica. O processo de pirólise pode ser bastante complexo e variável, dependendo das condições reacionais.

São compostos considerados poluentes orgânicos persistentes que podem ser encontrados em diferentes esferas, muitos deles apresentam propriedades carcinogênicas e mutagênicas, o que os tornam compostos de grande importância ambiental.<sup>6, 17</sup>

**Figura 5:** Estruturas químicas de 16 HPAs prioritários.

Fonte: BAIRD; CANN., 2011.

Os HPAs podem ser decorrentes de fontes naturais e antropogênicas. As fontes naturais possuem uma contribuição limitada ao que se refere à quantidade desses compostos em um determinado ambiente, podendo ser originados de erupções vulcânicas e queimadas espontâneas. As fontes antropogênicas representam a principal fonte de emissão dos HPAs, variando entre queima de carvão, escapamentos de veículos, óleos lubrificantes usados em motores, fumaça

de cigarro, dentre outras.<sup>17</sup> Em corpos aquáticos, podem ser decorrentes de efluentes domésticos e industriais, derramamento de petróleo e de óleos de navios tanques.<sup>16, 18</sup>

Esses compostos possuem baixa solubilidade em água podendo ser adsorvidos em partículas em suspensão e assim transportados em meio aquático sendo posteriormente depositados no sedimento. Alguns HPAs com maior massa molar podem sofrer bioacumulação em tecidos gordurosos de alguns organismos marinhos, afetando de forma direta os mesmos.<sup>16, 17</sup>

## 2.4 Esteróis

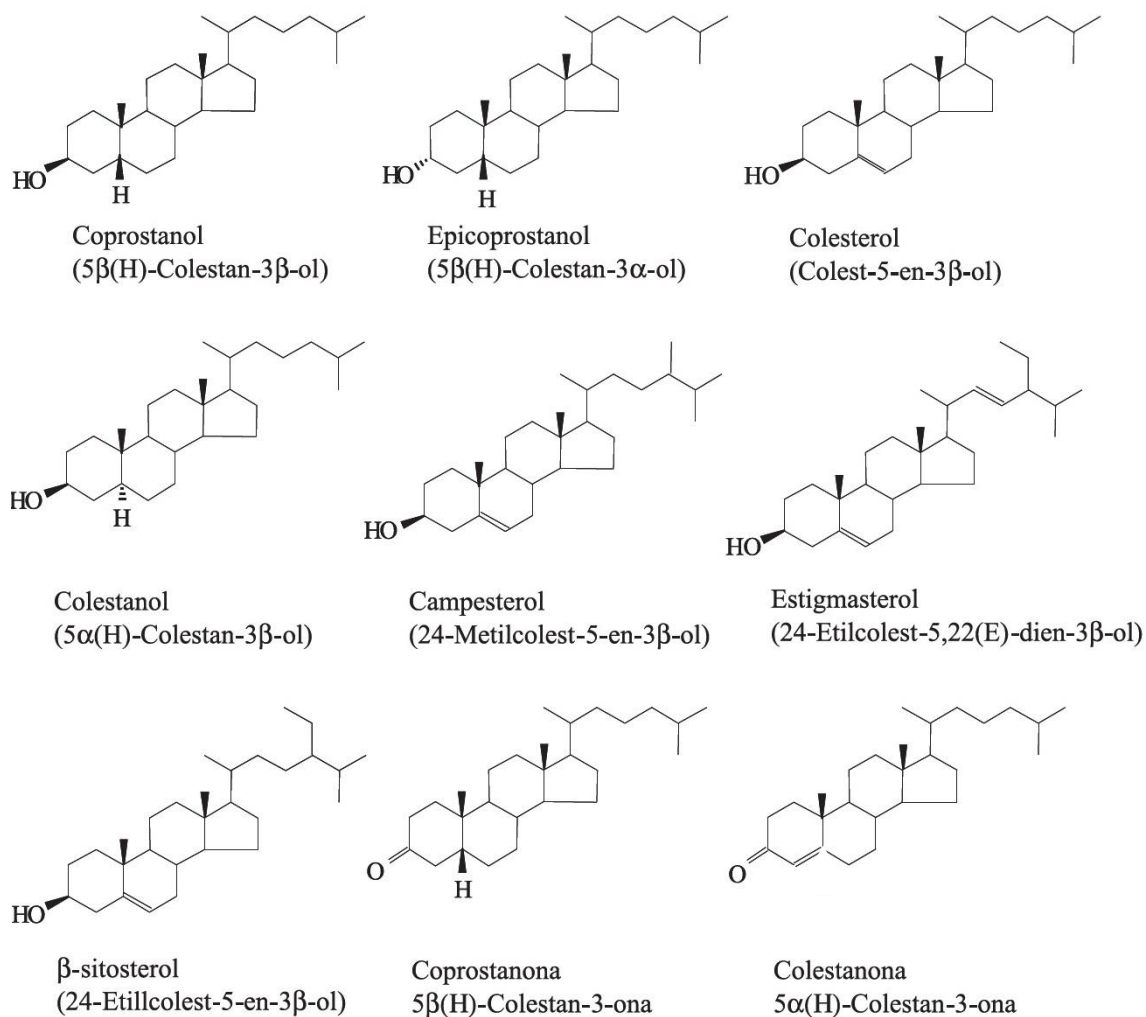
Os esteróis são constituintes naturais de organismos vivos, são compostos orgânicos cíclicos alifáticos que podem apresentar substituintes metílicos e variam entre 27 e 29 átomos de carbono.<sup>4</sup>

Esses compostos são amplamente utilizados como marcadores químicos em estudos de contaminação ambiental por esgoto em ambientes aquáticos por se correlacionarem com material fecal de origem humana.<sup>19</sup>

Os esteróis possuem baixa solubilidade em água podendo ser associados ao material particulado em suspensão ou acumulados no sedimento e apresentam resistência à degradação anaeróbia, sendo compostos preservados no sedimento.

Os sedimentos podem apresentar os seguintes esteróis; dinosterol, colesterol, campesterol,  $\beta$ -sitosterol, colestanol, coprostanol, epicoprostanol, entre outros. Quando apresentam contaminação por esgoto, apresentam todos estes, exceto dinosterol. Sedimentos não contaminados, não apresentam coprostanol e epicoprostanol. Esses dois compostos são derivados de contaminação fecal.<sup>3</sup>

**Figura 6:** Estruturas químicas de alguns esteróis.



Fonte: MARTINS et al. 2008.

O coprostanol é gerado por ações microbianas sobre o colesterol, estando diretamente ligado ao material fecal de animais superiores, como o homem. O epicoprostanol é um epímero do coprostanol, sendo derivado de processos de digestão aeróbica de lodos em estações de tratamento de esgoto. Quando concentrações baixas de epicoprostanol juntamente com altas concentrações de coprostanol são encontradas, conclui-se que o sedimento esteja contaminado por esgoto.<sup>3</sup>

Os esteróis podem ser derivados de fontes biogênicas e antropogênicas. As principais fontes biogênicas são oriundas de plantas terrestres, fitoplâncton e o zooplâncton.<sup>4</sup> O esgoto é responsável pela principal fonte antropogênica no ambiente marinho. O estudo desses compostos permite avaliar a qualidade do ecossistema.<sup>3, 19</sup>

## 2.5 Cromatografia a Gás

A técnica de cromatografia a gás possibilita a separação de gases ou substâncias volatilizáveis. Nessa técnica, a fase móvel não interage com os analitos, o que a torna diferente das demais. A separação ocorre ao longo de uma coluna cromatográfica, onde por diferença de afinidades com a fase estacionária e também com as propriedades de todas as substâncias contidas em uma amostra, os compostos podem ser volatilizados ficando retidos por um determinado período e posteriormente chegam à saída da coluna em tempos diferentes.<sup>20, 21</sup>

A amostra é introduzida na coluna contendo a fase estacionária através de um sistema de injeção. Com o uso de temperaturas adequadas é possível realizar a separação dos compostos que se deseja determinar. A utilização de um detector apropriado possibilita que os compostos sejam detectáveis e quantificados.<sup>20</sup>

### 2.5.1 Cromatografia a Gás com Detector por Ionização em Chama (GC/FID)

A cromatografia a gás com detector por ionização em chama (GC/FID) é comumente utilizada devido aos seus níveis de detectabilidade e resposta quase universal aos analitos em cada análise.

O gás de arraste chega ao detector e uma chama é produzida pela combustão de ar e hidrogênio, presente no detector, onde ocorre a queima e ionização de algumas das moléculas presentes nessa corrente gasosa, gerando íons que produzem uma corrente registrada como a linha base do detector. Quando moléculas da amostra presentes no gás de arraste chegam ao detector, elas são também queimadas na chama presente ocorrendo à formação de íons, que são coletados por um eletrodo. Pode-se perceber que a quantidade de íons formados quando a amostra está presente no meio, é maior do que quando apenas o gás de arraste está sendo queimado. A corrente gerada é convertida em voltagem, amplificada e captada pelo registrador.

A magnitude do sinal produzido é proporcional ao número de átomos de carbono e hidrogênio presentes na molécula.<sup>20</sup>

### 2.5.2 Cromatografia a Gás Acoplada à Espectrometria de Massas (GC-MS)

A espectrometria de massas era utilizada isoladamente nos estudos de caracterização de substâncias orgânicas. Atualmente a técnica se associou a outras como cromatografia a gás, onde através de uma interface o espectrômetro de massas é utilizado com detector com uma representativa seletividade e sensibilidade.<sup>22</sup>

A instrumentação em cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) consiste em um cromatógrafo, usualmente com coluna capilar, uma interface para ligação dos dois sistemas, uma câmara de ionização onde os íons são formados, uma câmara onde ocorre a separação destes, ambas sobre vácuo e um sistema para a detecção dos íons, acoplado a um sistema de registro com um programa para a interpretação dos dados obtidos.

A ionização das moléculas da amostra acontece na câmara de ionização e ocorre por impacto eletrônico ou ionização química.

No método do impacto eletrônico, um fluxo de elétrons com energia de ionização específica é produzido por filamento de tungstênio ou rênio aquecido. Esses elétrons com energia de geralmente 70eV colidem com as moléculas da amostra, provocando a ionização, bem como a fragmentação. Quando formados, os íons deixam a câmara de ionização e entram no analisador de massas, onde são separados de acordo com a razão massa/carga, através da imposição de um campo elétrico ou magnético externo. Depois de separados, os íons são detectados e um sistema processa os dados obtidos, fornecendo informações qualitativas e quantitativas.<sup>20, 23</sup>



### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Avaliar a presença de contaminantes provenientes de derivados de petróleo e esgoto presentes em amostras de sedimentos da Reserva Biológica Marinha do Arvoredo e entorno.

#### **3.2 Objetivos específicos**

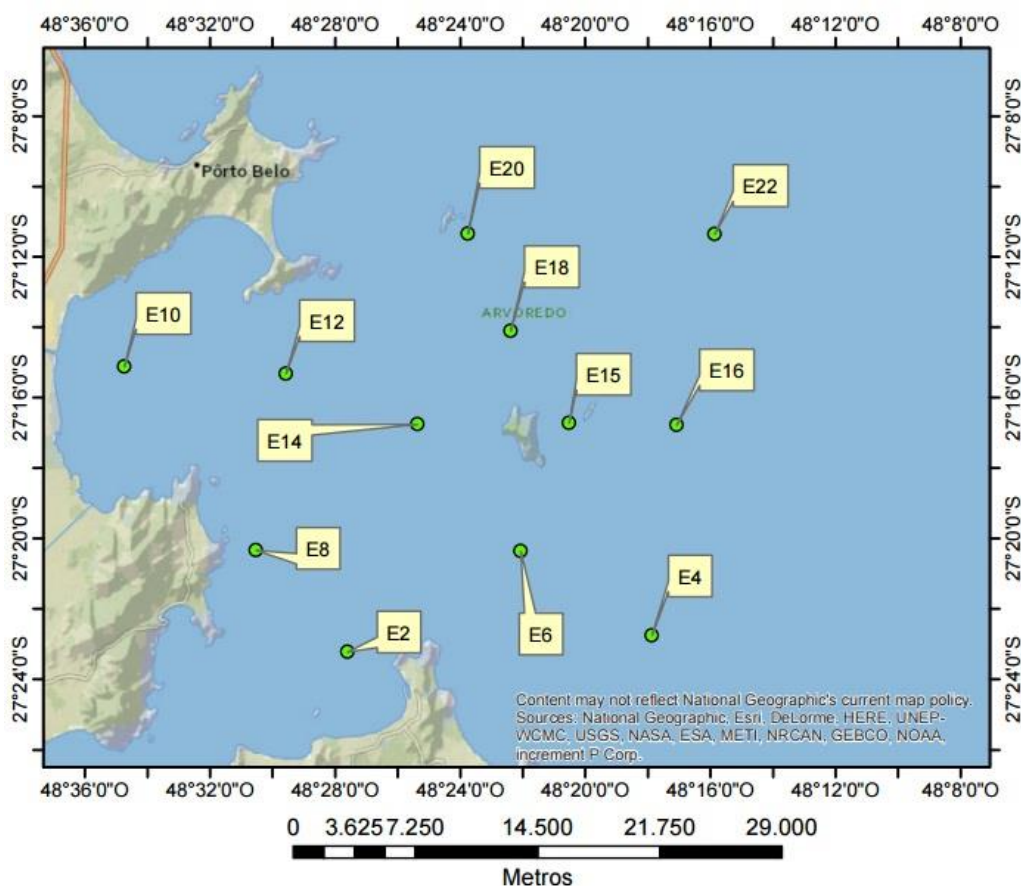
- Coletar amostras de sedimentos na REBIO Arvoredo e entorno que sejam representativas de possíveis contaminações na região.
- Avaliar e quantificar os grupos de hidrocarbonetos predominantes e os esteróis fecais no extrato orgânico das amostras de sedimentos, utilizando método analítico padrão da Environmental Protection Agency modificado e análises por GC/FID e GC-MS.
- Utilizar razões baseadas na distribuição de hidrocarbonetos para avaliar a origem da matéria orgânica, classificando-as em natural ou antropogênica.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Amostragem

A avaliação de compostos orgânicos que envolvem esse estudo começou pela coleta das amostras de sedimentos na Reserva Biológica Marinha do Arvoredo e Entorno. Foram coletadas doze amostras no verão de 2015 e onze amostras no verão de 2016 (exceto estação 18 devido às condições climáticas não favoráveis para amostragem). Cada amostra foi coletada em lugares distintos proposto pelo projeto MAArE, onde outros grupos de pesquisa também coletaram suas amostras de interesse. Os lugares onde foram coletadas as amostras foram denominados de estações e estão representados na Figura 7.

**Figura 7:** Representação esquemática das estações de coleta de amostra na REBIO Arvoredo e entorno.



Fonte: ArcMap.

As amostras foram coletadas com auxílio de um amostrador do tipo Van Veen (figura 8) e posteriormente foram armazenadas em frascos de vidro previamente calcinados. As amostras foram mantidas em isopor de gelo até a chegada ao Laboratório de Química Ambiental e Geoquímica Orgânica da Universidade Federal de Santa Catarina, onde foram acondicionadas em freezer a  $-4^{\circ}\text{C}$ .

**Figura 8:** Coleta de amostra de sedimentos com auxílio de amostrador do tipo Van Veen.



Fonte: Acervo Projeto MAArE.

## 4.2 Materiais e Reagentes

Os reagentes e solventes que foram utilizados para esse estudo na extração, fracionamento e silanização das amostras estão listados na Tabela 1 com seus respectivos fabricantes e pureza. Os resíduos foram descartados adequadamente para posterior tratamento.

**Tabela 1:** Reagentes, materiais e solventes utilizados nas determinações, extrações, e preservação das amostras.

<b>Reagentes e solventes</b>	<b>Fabricante</b>	<b>Pureza</b>
<b>Hexano</b>	TEDIA	HPLC
<b>Diclorometano</b>	TEDIA	HPLC
<b>Metanol</b>	TEDIA	HPLC
<b>Acetato de etila</b>	VETEC	HPLC
<b>Ácido clorídrico</b>	SYNTH	P.A. 37%
<b>BSTFA</b>	ALDRICH	P.A.
<b>Nitrogênio</b>	WHITE MARTINS	Grau ECD
<b>Sulfato de sódio</b>	NUCLEAR	P.A.
<b>Alumina</b>	Fluka Ckemika	
<b>Lã de vidro</b>	SYNTH	P.A.
<b>Cobre metálico em pó</b>	VETEC	P.A.
<b>Sílica gel 60 (70-230 Mesh)</b>	MERCK	P.A.
<b>Extran MA 02 neutro</b>	MERCK	

### 4.3 Equipamentos

Os equipamentos utilizados para esse estudo estão listados na Tabela 2, com seus respectivos fabricantes e modelo.

**Tabela 2:** Equipamentos.

<b>Equipamento</b>	<b>Fabricante</b>	<b>Modelo</b>
<b>Agitador de tubos vortex</b>	Phoenix	AP56
<b>Balança analítica</b>	Bel Mark	210 <sup>a</sup>
<b>Centrifuga</b>	Fanem	206R
<b>Estufa</b>	Quimis	Q317B242
<b>Liofilizador</b>	Heto	CT 60 E
<b>Mufla</b>	Quimis	Q317B243

<b>Rota evaporador</b>	Fisaton	802
<b>Ultrassom</b>	Unique	USC 1450
<b>GC-FID</b>	Shimadzu	GC-2014
<b>GC/MS</b>	Perkin Elmer	Clarus 680/ ClarusSQ 8S

#### 4.4 Limpeza da Vidraria

As determinações dos compostos orgânicos desse estudo encontram-se na faixa de micrograma e nanograma, devido a essa alta sensibilidade é necessário tomar alguns cuidados com a limpeza e o manuseio das vidrarias utilizadas durante o processo de preparo de amostra para que não haja fontes externas de matéria orgânica e outras contaminações. Para isso, todo o material empregado foi mantido em uma solução de EXTRAN (5% v/v) por algumas horas, enxaguada com água comum e posteriormente com água deionizada.

Depois de secas em estufa a 100°C as vidrarias foram calcinadas na mufla a 400°C durante um período de 4 horas, com exceção da vidraria volumétrica. Por fim a vidraria foi guardada em local apropriado e só manuseada com luvas.

#### 4.5 Ativação do Cobre

Antes de iniciar a etapa de extração, é necessário tratar as amostras com cobre para remoção de enxofre molecular que possa estar presente no sedimento e pode ser extraído junto com a matéria orgânica gerando interferência no sinal cromatográfico. Para isso, 1 g de cobre em pó foi adicionado em um tudo de fundo redondo juntamente com 3 mL de ácido clorídrico a 12 mol L<sup>-1</sup>, essa mistura foi agitada com auxílio de agitador de tubos vortex, centrifugada por 15 minutos e por fim o sobrenadante foi descartado. Posteriormente realizou-se a remoção de excesso de ácido com solventes orgânicos, lavando primeiro com metanol, seguido de uma solução de diclorometano:metanol 1:1 e por último com diclorometano.

#### 4.6 Extração

O procedimento de extração seguiu o método padrão da Environmental Protection Agency EPA 3550c <sup>24</sup>, com algumas modificações.

Para iniciar o procedimento das extrações, foi selecionada uma parcela do sedimento em um balão de fundo redondo e congelou-se para realização da liofilização durante 24 horas, removendo toda a água presente na amostra. Para a extração, pesou-se 5g desse sedimento previamente seco em um frasco extrator.

Adicionou-se 1 g de cobre ativado no frasco extrator contendo as 5 g de amostra. Ao mesmo frasco adicionou-se uma solução de 15 mL de diclorometano:metanol 2:1. Após a adição do solvente extrator, a mistura foi agitada em agitador de tubos vortex, mantida em ultrassom por 30 minutos, centrifugada por 15 minutos e por fim o sobrenadante foi coletado em um balão de fundo redondo de 250 mL. A etapa de extração foi realizada em três repetições. Ao final o extrato foi concentrado em rota evaporador para um volume aproximado de 2 mL.

#### 4.7 Fracionamento

O extrato concentrado foi fracionado em coluna de vidro (30 cm x 13 mm) empacotada com 10 g de sílica 2% (m/m) desativada e 1 g de alumina 5% (m/m) desativada, sobre lã de vidro previamente calcinada. O solvente utilizado pra evitar bolhas e rachaduras foi o hexano.

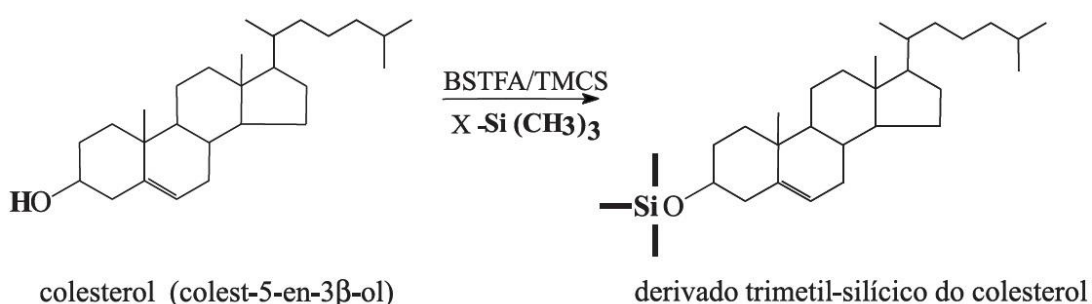
Na coluna já montada, adicionou-se o extrato concentrado e separou-se em três frações de interesse, a fração 1 contendo os hidrocarbonetos alifáticos, a qual foi eluída com 55 mL de hexano. A fração 2, contendo os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, eluída com 70 mL de uma solução de diclorometano:metanol 1:1; e a fração 3, que contém os esteróis foi eluída com 50 mL de uma solução de acetato de etila:metanol 3:1.

As frações foram coletadas em balão de fundo redondo de 250 mL e concentradas em rota evaporador para um volume aproximado de 2 mL. E em seguida cada fração foi transferida para um frasco de 2 mL e avolumada para 1 mL com auxílio de um leve fluxo de gás nitrogênio. As amostras foram armazenadas no congelador até o momento da análise por cromatografia a gás.

#### 4.8 Silanização

A fração 3 contendo os esteróis foi silanizada antes das análises por GC-MS. O solvente presente no frasco de 2 mL foi seco sob leve fluxo de nitrogênio e 100  $\mu\text{L}$  de N,O-bis(trimetil-silil-trifluor-acetamida)/trimetil-cloro-silano (BSTFA/TMCS - 99:1) foi adicionado, o frasco permaneceu durante 1 hora na estufa a  $60^\circ\text{C}$  para reação de derivação. Nesta reação os esteróis presentes na amostra são convertidos em derivados trimetil-siloxano, que favorece a separação na coluna cromatográfica, gerando sinais no espectro de massas provenientes da quebra da ligação Si – CH<sub>3</sub>. Em seguida o agente silanizante foi seco sob fluxo leve de nitrogênio e a amostra foi avolumada para 1 mL com hexano.

**Figura 9:** Exemplo de derivação de esteróis.



Fonte: MARTINS et al. 2008.

#### 4.9 Análise, Identificação e Quantificação

A fração 1 contendo os hidrocarbonetos alifáticos ou representada pelos hidrocarbonetos totais de petróleo (TPH) foi analisada através de GC/FID e quantificada por meio de curva de calibração por padrão interno (C<sub>16D</sub>, 10  $\mu\text{L mL}^{-1}$ ), adicionado no extrato da amostra. A concentração desses compostos foi medida através da soma de todos os n-alcenos da amostra, corrigindo o fator de resposta com o padrão interno. As condições cromatográficas estão descritas na Tabela 3.

**Tabela 3:** Condições cromatográficas empregadas no GC/FID.

<b>Coluna (J&amp;W, DB-5) 5% de fenila</b>	30m x 0,32mm di x 0,25 µm de fase estacionária
<b>Temperatura da coluna</b>	50 °C (5 min) 6 °C min <sup>-1</sup> até 300 °C (6 min)
<b>Gás de arraste</b>	H <sub>2</sub> fluxo constante de 3 mL min <sup>-1</sup>
<b>Modo de injeção</b>	Splitless (1 min)
<b>Volume da amostra</b>	1 µL
<b>Temperaturas (Injetor e Detector)</b>	280 e 300 °C

As frações 2 e 3 que contém os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e os esteróis foram analisada por GC-MS e quantificada através de curvas de calibração. A construção da curva de calibração para os HPAs foi realizada com uma solução de padrões deuterados contendo 16 HPAs considerados prioritários pela USEPA (naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo(a)antraceno, criseno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, indeno(1,2,3-c,d)pireno, dibenzo(a,h)antraceno, benzo(ghi)perileno). E para os esteróis, foi construída uma curva de calibração com padrão de coprostanol. As condições cromatográficas utilizadas no GC-MS estão descritas na Tabela 4.

**Tabela 4:** Condições cromatográficas empregadas no GC-MS.

<b>Coluna (DB-5MS)</b>	30m x 0,25mm di x 0,25 µm de fase estacionária
<b>Temperatura da coluna</b>	80 °C (1 min) 10 °C min <sup>-1</sup> até 270 °C (20 min)
<b>Gás de arraste</b>	He fluxo constante de 1 mL min <sup>-1</sup>
<b>Modo de injeção</b>	Split 1:5
<b>Volume da amostra</b>	1 µL
<b>Temperaturas (Injetor, fonte e interface)</b>	280, 230 e 275 °C
<b>Modo de ionização</b>	EI 70 eV



## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 Hidrocarbonetos Alifáticos

A fração 1 contendo os Hidrocarbonetos Alifáticos foi avaliada com base na distribuição de HTP. Essa fração foi quantificada através de curva de calibração, construída a partir da somatória das áreas de 32 n-alcenos na faixa de C<sub>8</sub> a C<sub>40</sub>, dividida pela área do padrão interno (C<sub>16d</sub>) sobre a somatória das concentrações. Este padrão interno é adicionado a todas as amostras antes da análise por cromatografia a fim de normalizar os erros associados à injeção da amostra no cromatógrafo.

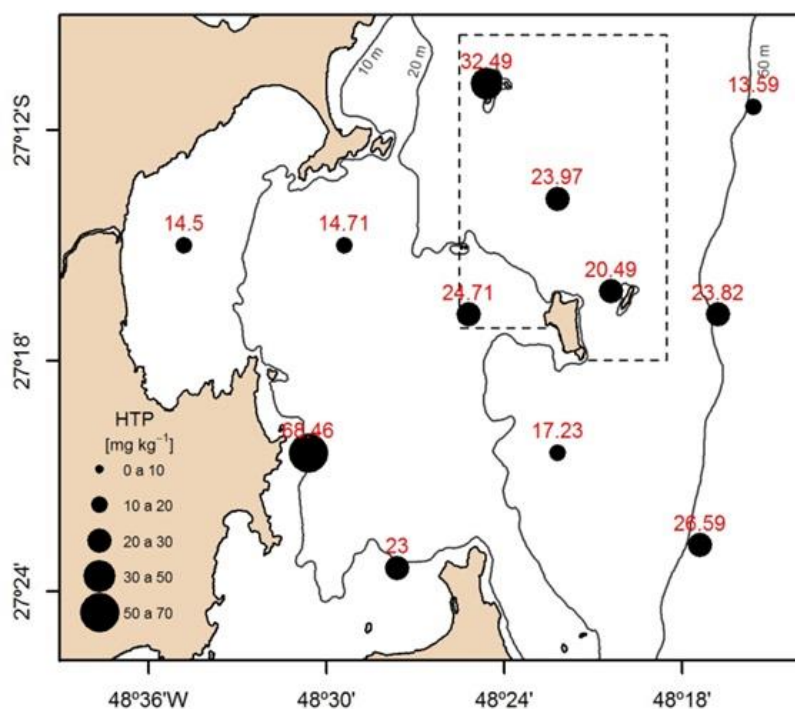
O valor de HTP representa a área total apresentada no cromatograma. E estão inclusos os picos resolvidos e os não resolvidos (UCM), com exceção da área do padrão interno. A partir da equação geral da reta da curva de calibração ( $Y = 0,0381X - 1,1065$ , com  $R^2 = 0,9989$ ) os valores de concentração foram determinados variando de 13,59 a 68,46 mg kg<sup>-1</sup> para a campanha de 2015 e de 3,93 a 28,26 mg kg<sup>-1</sup> para a campanha de 2016. Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) para os hidrocarbonetos totais de petróleo foram de 0,30 mg kg<sup>-1</sup> e 1,00 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente.

Para os valores de concentração determinados foi realizada a análise de variância (ANOVA) a fim de avaliar se existem diferenças significativas entre os pontos de coleta e os anos de análise. Foram avaliadas as campanhas de verão de 2015, verão de 2016 e também do verão de 2014, sendo que os valores desse primeiro ano foram retirados do banco de dados do Projeto MAArE e estão dispostos na Tabela 5, juntamente com os valores encontrados para as campanhas de 2015 e 2016. As representações geográficas das estações estão demonstradas nas Figuras 10 e 11.

**Tabela 5:** Dados das concentrações de HTP das campanhas realizadas.

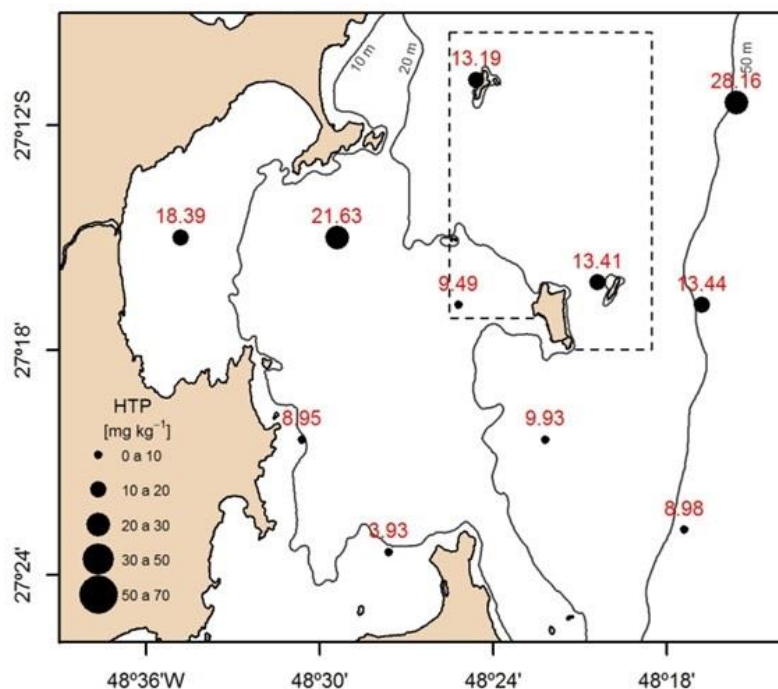
Amostra	Campanha 2014*	Campanha 2015	Campanha 2016
	mg kg <sup>-1</sup>	mg kg <sup>-1</sup>	mg kg <sup>-1</sup>
<b>Estação 2</b>	8,47	23,00	3,93
<b>Estação 4</b>	9,02	26,59	8,98
<b>Estação 6</b>	29,91	17,23	9,93
<b>Estação 8</b>	20,98	68,46	8,95
<b>Estação 10</b>	11,23	14,50	18,39
<b>Estação 12</b>	56,61	14,71	21,63
<b>Estação 14</b>	20,52	24,71	9,49
<b>Estação 15</b>	8,47	20,49	13,41
<b>Estação 16</b>	-	23,82	13,44
<b>Estação 18</b>	6,63	23,97	-
<b>Estação 20</b>	-	32,49	13,19
<b>Estação 22</b>	40,90	13,59	28,16

\*Dados retirados do banco de dados do Projeto MAArE.

**Figura 10:** Representação em mapa das concentrações de HTP para a campanha de 2015.

Fonte: Acervo Projeto MAArE.

**Figura 11:** Representação em mapa das concentrações de HTP para campanha de 2016.



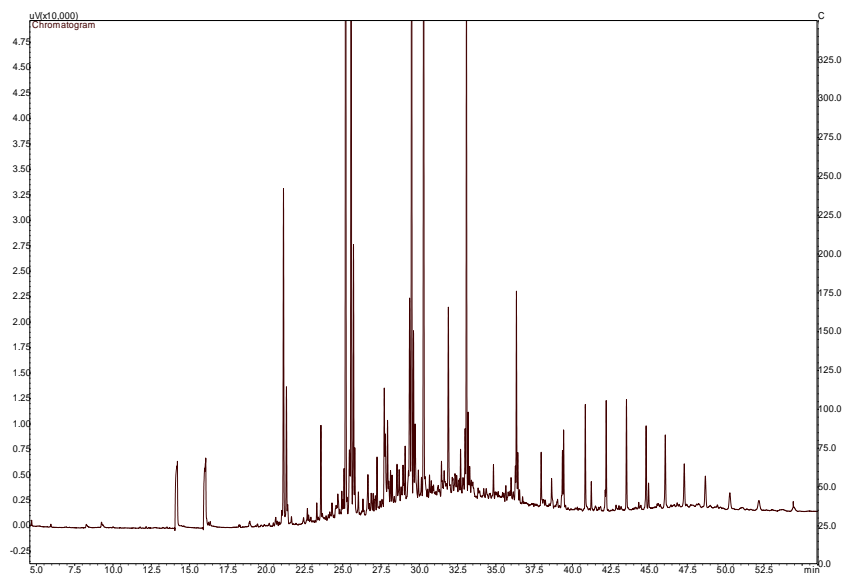
Fonte: Acervo Projeto MAArE.

As concentrações determinadas apontam um perfil de regiões semelhantes aos ambientes com baixo nível de contaminação. De acordo com análise de variância, os valores não apresentaram diferença significativa ( $p > 0,05$ ). Próximos à foz do Rio Tijucas (estações 8, 10 e 12) foram observados perfis de distribuição dos hidrocarbonetos característicos de ambientes com possível contaminação de petróleo, porém apresentaram concentrações abaixo dos valores encontrados em regiões contaminadas por compostos petrogênicos.<sup>25</sup> Dentre todos os resultados, é importante destacar que o local que apresentou uma tendência em valores mais altos de HTP (68,46 mg kg<sup>-1</sup>, estação 8) encontra-se próximo a Ilha de Santa Catarina, fora da área dos limites da REBIO Arvoredo.

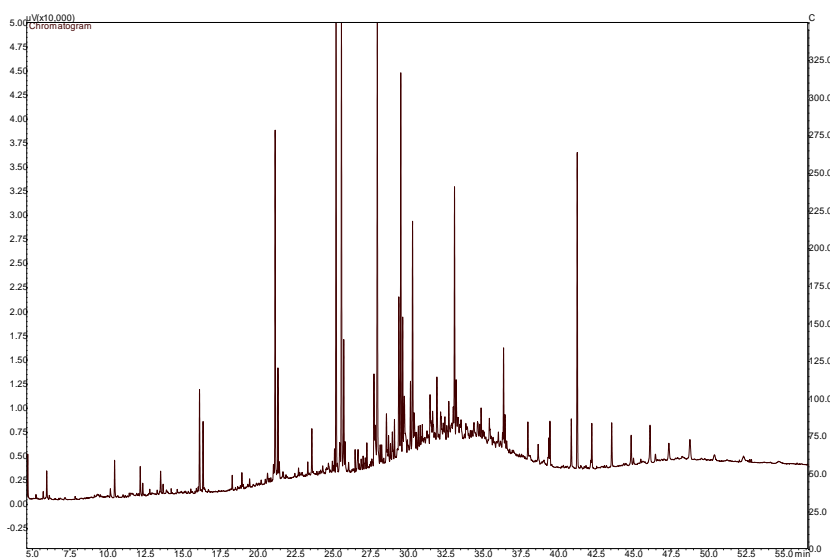
### 5.1.1 Mistura Complexa Não Resolvida (UCM)

Duas amostras da coleta de 2016 apresentaram uma UCM e estão representadas nas Figuras 12 e 13:

**Figura 12:** Perfil cromatográfico obtido através de análise por GC-FID para amostra da estação 8 da campanha de 2016.



**Figura 13:** Perfil cromatográfico obtido através de análise por GC-FID para amostra da estação 12 da campanha de 2016.



A UCM costuma ser considerada como uma mistura complexa de isômeros com estruturas complexas, homólogos de hidrocarbonetos ramificados e cíclicos que não podem ser separados por uma coluna capilar usual. Normalmente é caracterizada por compostos derivados do petróleo, no entanto a formação de uma UCM que elui entre os n-alcenos  $C_{16}$  e  $C_{22}$  são relacionadas com a degradação bacteriana de insumos orgânicos naturais, como por exemplo, algas.<sup>26</sup>

Um dos critérios comumente utilizados para caracterizar uma UCM é a razão entre a mistura complexa não resolvida e os picos resolvidos (UCM/PC), onde valores acima de 4, indicam provável contaminação por resíduos de petróleo.<sup>26, 27</sup> As amostras da estação 8 e estação 12, que apresentaram elevação na linha base, apresentaram razões de 0,39 e 1,95 respectivamente. Este resultado indica que as amostras não apresentam contaminação por resíduos de petróleo.

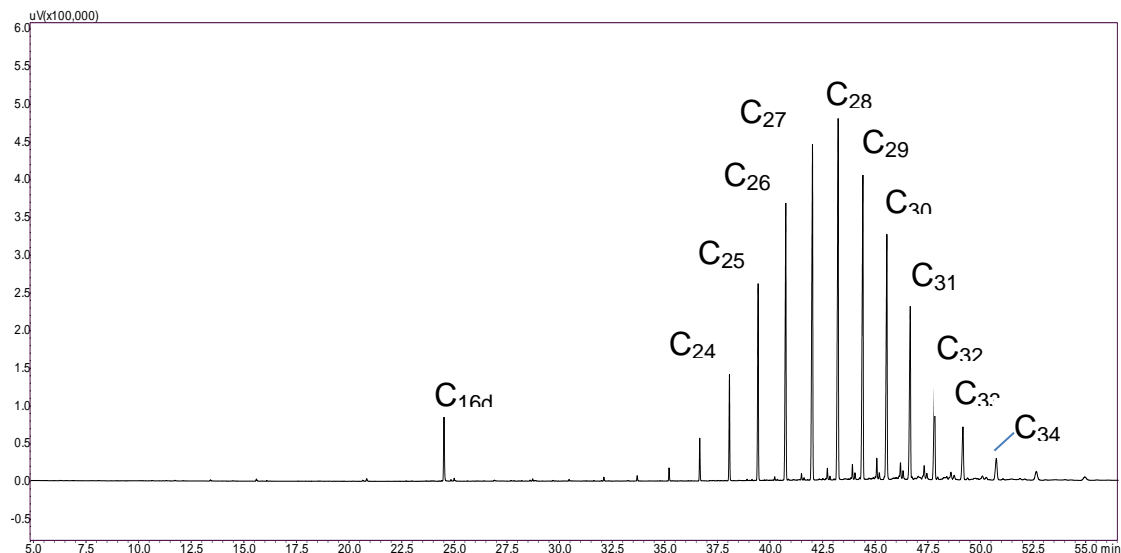
#### 5.1.1 Índice Preferencial de Carbono (IPC)

Índice Preferencial de Carbono (IPC) é um parâmetro que possui como finalidade distinguir fontes de hidrocarbonetos alifáticos, em origem natural, caracterizada por valores de IPC de 4 a 7, ou fontes por contaminação de petróleo, que apresentam valores próximos a 1.<sup>14</sup> O IPC pode ser calculado através de razões entre hidrocarbonetos ímpares e pares, de acordo com a Equação 1.<sup>4</sup>

$$IPC = \frac{2(\sum \text{ímpares } C_{25} - C_{33})}{[(\sum \text{pares } C_{24} - C_{32}) + (\sum \text{pares } C_{26} - C_{34})]} \quad \text{Eq. 1.}$$

Para que esse parâmetro seja efetivo é necessário que os picos referentes aos hidrocarbonetos contidos nessa equação estejam bem resolvidos. Algumas das amostras da coleta de 2015 apresentaram uma boa separação e resolução dos picos como pode ser observado na Figura 14:

**Figura 14:** Perfil cromatográfico obtido através de análise por GC-FID para amostra da estação 2 da campanha de 2015, onde C<sub>16d</sub> é o pico referente ao padrão interno, os subsequentes são referentes aos n-alcenos.



A partir da identificação dos hidrocarbonetos, que foi realizada através da comparação dos tempos de retenção dos compostos nas amostras e dos padrões contendo os 32 n-alcenos, os seguintes valores de IPC foram calculados:

**Tabela 6:** Valores de IPC para algumas amostras de 2015.

Amostra	IPC
Estação 2	1,04
Estação 4	1,05
Estação 6	1,05
Estação 10	1,05
Estação 12	1,04
Estação 14	0,98
Estação 15	0,94
Estação 16	1,18
Estação 18	1,10

Todas as amostras que envolveram o cálculo de IPC, apresentaram um valor próximo a 1, sendo esse valor um fator de indicação de possível contaminação por petróleo. Porém, apenas esse índice não pode caracterizar com certeza que a fonte desses hidrocarbonetos seja petrogênica, outros parâmetros precisariam estar associados à mesma amostra. O resultado obtido também pode estar relacionado à degradação microbiana da matéria orgânica.<sup>15</sup>

A ausência de hidrocarbonetos com massas molares mais baixas, na faixa de C<sub>15</sub>, C<sub>17</sub> e C<sub>19</sub> característicos de compostos de origem marinha, sobretudo fitoplantônicos, pode ser explicada pela fácil intemperização causada pelo clima tropical na região, de fato as determinações de suas concentrações em amostras ambientais são afetadas por esse processo, assim também como os cálculos das razões diagnósticas.<sup>28</sup>

Nas demais amostras que compõem as campanhas de 2015 e 2016, não foi possível caracterizar os hidrocarbonetos para o cálculo do IPC devido à dificuldade em interpretar os picos no cromatograma, podendo apresentar não apenas a fração alifática, mas também uma mistura de hidrocarbonetos ramificados.

### **5.1.3 Porcentagem de Carbono**

A porcentagem de carbono orgânico foi determinada por outro grupo de pesquisa que integra o Projeto MAArE. Os resultados compartilhados mostram uma faixa entre 0,05 a 5% de carbono orgânico nas amostras das campanhas do verão de 2015 e 2016. Os valores mais altos observados seguem o mesmo comportamento que os observados para os hidrocarbonetos, mostrando um aporte maior ao norte da ilha de Santa Catarina e próximo à foz do rio Tijucas.

A porcentagem de nitrogênio total também foi analisada, e através de uma razão de carbono orgânico total e nitrogênio total é possível estimar a origem da matéria orgânica. Para a campanha de 2015 observou-se uma predominância de origem terrígena e para 2016 uma origem marinha. É válido ressaltar que o pequeno número de amostras em apenas duas campanhas não permite uma avaliação mais contundente das fontes predominantes de matéria orgânica na região.

## 5.2 Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos

A fração 2, que contém os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA), foi quantificada através de curva de calibração, construída a partir de uma solução contendo 16 padrões autênticos de HPAs prioritários e foi caracterizada pelos mesmos padrões através dos seus fragmentos característicos.

Foram observados para as amostras de sedimentos os seguintes HPAs: naftaleno, fenantreno, fluoranteno, pireno, criseno, benzo (k) fluoranteno e benzo (a) antraceno. Nenhum dos HPAs citados apresentou valores de concentração acima do limite de quantificação do método ( $1,0 \mu\text{g kg}^{-1}$ ), de modo que todos os HPAs identificados apresentaram valores inferiores aos estipulados pelo Guia de Qualidade do Sedimento de NOAA, que estipula valores maiores que  $86 \mu\text{g kg}^{-1}$  de sedimento seco para regiões contaminadas por compostos poliaromáticos.

## 5.3 Esteróis

A fração 3 foi analisada afim de investigar se há contaminação por esgoto não tratado na REBIO Arvoredo. Para isso foi realizada um curva de calibração com padrão autêntico de coprostanol.

Em nenhuma das amostras foram determinados valores acima do limite de detecção do método ( $3,7 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) para coprostanol. O método utilizado é encontrado na literatura para avaliação de esteróis em regiões costeiras com alto índice de impacto de água de esgoto não tratada.<sup>19</sup> O comportamento dessas amostras aponta que não há contaminação por esgotos na região da REBIO Arvoredo e entorno.



## 6 CONCLUSÃO

Os extratos orgânicos derivados das amostras de sedimentos coletadas na Reserva Biológica Marinha do Arvoredo e entorno apresentaram valores de HTP abaixo do considerado como contaminação por fontes antropogênicas. Os valores que apresentaram uma tendência a maiores concentrações de HTP encontram-se fora dos limites da reserva, próximo a Ilha de Santa Catarina na estação 8 com valor de  $68,46 \text{ mg kg}^{-1}$  para campanha de 2015. Algumas amostras apontaram um perfil característico de contaminação por petróleo, como a formação de UCM e valores próximos a 1 para o IPC. Porém, esses critérios isoladamente não podem caracterizar com certeza que há contaminação na região da REBIO Arvoredo principalmente em regiões onde os hidrocarbonetos de massas molares mais leves estão mais suscetíveis à intemperização, afetando a determinação do HTP e outras razões diagnósticas.

Os resultados cruzados com outro estudo que integra o Projeto MAArE apontaram que para o ano de 2015 os hidrocarbonetos derivaram de um aporte terrestre e para o ano de 2016 predominou origens marinhas, como o fitoplâncton.

Os HPAs caracterizados apresentaram concentrações abaixo do limite de quantificação do método, apontando um baixo índice de contaminação por compostos derivados de fontes antropogênicas, ao qual não se observa reações de toxicidade para a biota bentônica.

Nenhum esterol foi encontrado nas amostras analisadas, indicando que não há contaminação oriunda de esgoto doméstico não tratado na REBIO Arvoredo e entorno.

O monitoramento na reserva iniciou-se no ano de 2014 e encerra ao fim do ano de 2016. Os dados do presente trabalho e os das demais subáreas de pesquisa irão compor o fechamento de Monitoramento Ambiental na Reserva Biológica Marinha do Arvoredo e Entorno. Como parte do trabalho realizado, está sendo elaborado um livro que reporta os três anos de pesquisa e monitoramento.

## 7 REFERÊNCIAS

- <sup>1</sup>MMA; IBAMA. **Reserva Biológica Marinha do Arvoredo**.
- <sup>2</sup>MEDEIROS, P. M. et al. Natural and anthropogenic hydrocarbon inputs to sediments of Patos Lagoon Estuary, Brazil. **Environment International**, v. 31, n. 1, p. 77–87, 2005
- <sup>3</sup>MARTINS, C. D. C. et al. Marcadores orgânicos de contaminação por esgotos sanitários em sedimentos superficiais da baía de Santos. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1008–1014, 2008.
- <sup>4</sup>KILLOPS, S.; KILLOPS, V. **Introduction to Organic Geochemistry**. Malden, MA USA: Blackwell Publishing Ltd, 2004.
- <sup>5</sup>ESTEVES, F. D. A. **FUNDAMENTOS DA LIMNOLOGIA**. Rio de Janeiro: Interciência, 1998.
- <sup>6</sup>TAROZO, R.; FRENA, M.; MADUREIR, L. A. S. Geochemical markers as a tool to assess sedimentary organic matter sources of the Laguna Estuarine System, South Brazil: Aliphatic and polycyclic aromatic hydrocarbons. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 12, p. 2308–2318, 2010.
- <sup>7</sup>MEYERS, P. A.; ISHIWATARI, R. Lacustrine organic geochemistry-an overview of indicators of organic matter sources and diagenesis in lake sediments. **Organic Geochemistry**, v. 20, n. 7, p. 867–900, 1993.
- <sup>8</sup>POTTER, T.; SIMMONS, K. **COMPOSITION OF PETROLEUM MIXTURES**. 1. ed. Massachusetts: Amherst Scientific, 1998.
- <sup>9</sup>KOLESNIKOVAS, C.; OLIVEIRA, E. DE; DUARTE, U. Avaliação de risco toxicológico para hidrocarbonetos totais de petróleo em forma fracionada aplicada à gestão e monitoramento de água subterrânea em um complexo industrial. p. 31–44, 2009.
- <sup>10</sup>HARJI, R. R.; YVENAT, A.; BHOSLE, N. B. Sources of hydrocarbons in sediments of the Mandovi estuary and the Marmugoa harbour , west coast of India. v. 34, p. 959–965, 2008.

- <sup>11</sup>FRENA, M. **AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS SEDIMENTOS POR MEIO DE BIOMARCADORES GEOQUÍMICOS E ELEMENTO TRAÇO EM AMOSTRAS DO ESTUÁRIO DO RIO ITAJAÍ-AÇU E DETERMINAÇÃO DE CONTAMINANTES EM MATRIZES DE RESÍDUOS SÓLIDOS.** [s.l.] Tese (Doutorado em Química) – Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, SC., 2014.
- <sup>12</sup>ENGEL, M. H.; MACKO, S. A. **Organic Geochemistry: Principles and Applications.** Boston, MA: Springer US, 1993.
- <sup>13</sup>MADUREIRA, L. A. DOS S. ORGANIC COMPOUNDS IN MARINE SEDIMENTS: A JOURNEY TO THE BOTTOM OF THE NORTH ATLANTIC OCEAN. v. 25, n. 5, p. 814–824, 2002.
- <sup>14</sup>GOGOU, A.; BOULOU BASSI, I.; STEPHANOU, E. G. Marine organic geochemistry of the Eastern Mediterranean : 1 . Aliphatic and polyaromatic hydrocarbons in Cretan Sea surficial sediments. 2000.
- <sup>15</sup>CATARINA, S. et al. AVALIAÇÃO DE COMPOSTOS ORGÂNICOS EM SEDIMENTOS SUPERFICIAIS DA BAÍA DE BABITONGA ,. v. 20, n. 2, p. 208–218, 2006.
- <sup>16</sup>BAIRD, C.; CANN, M. **Química Ambiental.** 4 ed ed. Porto Alegre: Bookman, 2011.
- <sup>17</sup>CARUSO, M. S. F.; ALABURDA, J. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos - benzo(a)pireno: uma revisão Polycyclclic aromatic hydrocarbons -benzo(a)pyrene: a review. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 67, n. 1, p. 1–27, 2008.
- <sup>18</sup>KENNISH, M. J. **ECOLOGY OF ESTUARIES: ANTHROPOGENIC EFFECTS.** Florida: CRC Press, 1992.
- <sup>19</sup>FRENA, M. et al. Evaluation of anthropogenic contamination using sterol markers in a tropical estuarine system of northeast Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, p. 4–8, 2016.
- <sup>20</sup>COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **FUNDAMENTOS DE CROMATOGRAFIA.** Campinas: Unicamp, 2006.

- <sup>21</sup>SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. **PRINCIPIOS DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL**. 5. ed. Madrid: Concepción Fernández Madrid, 2001.
- <sup>22</sup>CIENFUEGOS, F.; VAITSMAN, D. **ANÁLISE INSTRUMENTAL**. Rio de Janeiro: Interciência, 2000.
- <sup>23</sup>GRAHAM SOLOMONS, T. W.; FRYHLE, C. B. **ORGANIC CHEMISTRY**. [s.l.] John Wiley & Sons, 2007.
- <sup>24</sup>USEPA. **Method 3550C**, [s.d.].
- <sup>25</sup>READMAN, J. W. et al. Petroleum and PAH Contamination of the Black. n. January, 2002.
- <sup>26</sup>OLIVEIRA, C. R. DE; MADUREIRA, L. A. DOS S. Assessment and sources of nonaromatic hydrocarbons in surface sediments of three harbors in Santa Catarina State , Brazil. p. 91–105, 2011.
- <sup>27</sup>SIMONEIT, B. R. .; MAZURIK, M. A. Organic matter in the troposphere II: Natural background of biogenic lipid matter in aerosols over the rural western United States. *Atmospheric Environment*. v. 16, p. 2139–2159, 1982.
- <sup>28</sup>CELINO, J. J. et al. FONTE DA MATÉRIA ORGÂNICA E GRAU DE CONTAMINAÇÃO POR HIDROCARBONETOS TOTAIS DE PETRÓLEO ( HTP ) EM SEDIMENTOS DE PB01. n. 1996, p. 2–7, 2007.